Enregistré [illegible] des prix

Prix Laroze

22 Juin 1896

Monsieur le Secrétaire,

J'ai l'honneur de vous adresser un mémoire pour le prix Laroze (Analyse) si vous l'en jugez digne.

Veuillez agréer Monsieur le Secrétaire l'hommage de mon profond respect

Baudran

Prix Laroze 1896 (1)

Dosage des Matières albuminoïdes dans le lait de femme.



Il ne m'a pas été donné jusqu'à cette époque de connaître un procédé simple, rapide, exact de doser les matières albuminoïdes dans le lait de femme. Toutes les méthodes proposées ne fournissent que des résultats erronés : toutes celles basées sur la précipitation laissent dans le liquide filtré une partie des albuminoïdes à laquelle on a donné les noms divers de lactalbumine, lactoprotéine, peptone etc.. et que Monsieur Duclaux a montré n'être que de la caséine identique à celle précipitée par les réactifs.

Pour les autres mammifères la question est trop connue pour que j'y insisté et les moyens sont simples et d'une exactitude suffisante. Le plus souvent on n'a que des examens comparatifs à faire : un lait trait en présence de la gendarmerie à confronter avec un échantillon saisi sur la voie publique, les quantités remises à l'expert sont toujours suffisantes même pour plusieurs opérations.

Mais le problème devient différent lorsque le chimiste est consulté sur le cas d'une nourrice. Souvent l'échantillon, 10 cc au plus, est à peine suffisant pour conduire à bien une analyse sérieuse. Il paraît bien délicat en effet avec une aussi faible quantité de doser le beurre, le sucre

l'albumine et de prendre la densité. Et cependant ce sont les données fondamentales sur lesquelles on doit se reposer lorsqu'il s'agit de faire choix d'une nourrice. Le beurre et le sucre sont l'un et l'autre des aliments d'épargne et respiratoire. Quant aux matières azotées leur teneur est presque toujours en dessous de la vérité. Cela tient à nos moyens imparfaits Elle est cependant d'importance capitale dans la nutrition.

Mais avant d'entrer dans le détail des faits qui nous ont guidé disons un mot de ce que nous entendons par matières albuminoïdes à doser.

Elles se présentent en général dans le lait sous forme de matière amorphe, filante, mousseuse si elles sont en solution, cornées ou translucides à l'état sec. Traitées par les acides minéraux faibles elles tendent à séparer d'abord les sels et les bases unies à leurs molécules, puis ces acides agissant sur elles, modifient leur état d'hydratation et les transforment en isomères solubles et insolubles. C'est ainsi que les acides Chlorhydrique, Sulfurique et nitrique à ½ ou 1% modifient la caséine et donnent des syntonines ou acidalbumines qui ont même composition apparente que l'albumine primitive et à peu près le même pouvoir rotatoire, mais qu'on ne saurait retransformer de l'albuminoïde d'où l'on est parti en enlevant l'acide ajouté. De plus à l'état sec ou même quelquefois humide elles se colorent toutes en violet rougeâtre par un long contact avec l'acide chlorhydrique concentré, ou par

l'ébullition, mais il faut auparavant dégraisser la matière sèche en la lavant avec de l'alcool éthéré. Parmi les acides organiques, l'action de l'acide acétique a été particulièrement étudiée. On arrive à ceci: ~~A~~ l'exception de la caséine, de la caséo-albumine et des syntonines leurs solutions ne sont pas précipitées par $C^4H^4O^4$ qui les sépare au contraire en présence des sels alcalins ou terreux, chlorures ou sulfates de sodium et de calcium mais non de magnésium. L'acide picrique les précipite également.

L'action des sels proprement dits est curieuse. Le sulfate de magnésie entraine la caséine du lait sous forme d'une substance emplastique.
L'ébullition en présence de sel marin et d'acide acétique rend sensible 1/20000 d'albumine.
Le sulfate d'ammoniaque concentré ajouté en excès sépare à l'état de flocons et entièrement toutes les matières albuminoïdes sauf les peptones.
Le ferro cyanure de potassium et l'acide acétique, précipite toutes les matières albuminoïdes solubles sauf les peptones.

Beaucoup de sels de métaux lourds agissent de même, acétate de plomb, chlorure de platine etc.
Sous l'influence des ferments solubles non figurés, en particulier ceux du tube digestif, pepsine, pancréatine, papaïne, les matières albuminoïdes s'hydratent, se transforment en peptones, substances protéiques plus simples, assez facilement dialysables et qui ne sont plus précipitées par les sels métalliques sauf par l'iodo mercurate ou l'iodo bismuthate de potassium ainsi que par le sous acétate de

plomb et le sublimé. Sous l'influence de l'alcool ces principes immédiats précipitent tous.

Ils sont insolubles dans la benzine, l'éther, les huiles fixes et volatiles.

De toutes les variétés d'albumines qu'on connait, trois se trouvent surtout dans le lait.

1º Caséine – Elle est insoluble dans l'eau mais généralement maintenue en solution dans les liqueurs de l'économie grâce à une faible proportion de carbonates et de phosphates alcalins. La présure peut coaguler ces solutions vers 30 à 40° mais non la chaleur.

Elle précipite par les acides organiques les plus faibles et se redissout dans un excès d'acide. C'est la principale substance du lait de vache; c'est elle qui lui communique la propriété de se cailler lorsqu'on l'acidifie légèrement ou lorsqu'on fait agir la présure.

2º La Lactalbumine se rencontre chez les vaches privées de leurs ovaires, chez la chienne, chez la femme.

3º La Lactoprotéine incoagulable par la chaleur et les acides mais précipitée par l'acétate de mercure et rougissant par le réactif de Millon.

C'est cette dernière substance qui est cause que lorsqu'on fait un dosage d'albumine en employant un des agents qui précèdent on a toujours dans le liquide filtré un précipité avec les réactifs de Tanret, Méhu, Esbach et l'alcool. Elle échappe donc jusqu'alors à nos investigations; et, cependant ce n'est pas une quantité tout à

fait négligeable et nous verrons que le terme d'incoagulable ne saurait plus lui convenir. Elle varie du reste de 2g.90 à 3g49 dans le lait de vache et est en moyenne de 2g77 par litre dans celui de la femme.

Mais avant de décrire le procédé et les modifications accessoires que nous avons employés, faisons la critique des anciens modes opératoires usités pour doser les matières albuminoïdes du lait de femme.

A- Dans le dictionnaire de Wurtz nous lisons à l'article : Lait de femme : la caseine ne se coagule que difficilement et imparfaitement par la présure, à fortiori bien entendu par les agents que l'on emploie communément : acide lactique, ~~acide lactique~~ chlorhydrique, acide acétique acide chlorhydrique etc.

B- Hoppe-Seyler écrit que ce liquide étendu d'eau et traité par l'acide acétique puis par un courant d'acide carbonique ne donne pas de précipité floconneux semblable à celui que donne le lait de vache ou de chèvre. Sa caseine constitue une masse gélatineuse difficile à filtrer. Les méthodes qu'il recommande en les accompagnant de commentaires judicieux sont :

Prendre 25 cc de lait et ajouter 3 à 4 volumes d'alcool à froid. Recueillir le précipité.

Une partie de l'albumine reste dans les liqueurs. Employer du sulfate de magnésie ou du sulfate de soude, soit seuls, soit avec le concours de l'acide acétique

Cette méthode ne donne pas de bons résultats.

Enfin l'usage du chlorure sodique est encore plus inexact pour assurer la précipitation totale des matières albuminoïdes.

G.- Méhu avait si bien compris l'importance de la matière azotée, qu'il est extrêmement difficile de remplacer ou d'ajouter quand elle fait défaut, que son étude sur le lait de femme est un modèle du genre.

Ce liquide en effet se comporte comme un lait de carnivore soumis à un régime mixte, il est extrêmement variable dans la proportion de ses éléments. Lui aussi déclare que l'acide acétique ne précipite pas toute la matière albuminoïde du lait. Le sulfate de Magnésie est aussi impuissant que l'acide acétique. Il a publié une méthode qui rend possible le dosage sur un même liquide, d'une part des matières albuminoïdes en bloc, d'autre part de la lactose, il ajoute: Quant à la séparation de la caséine proprement dite on peut la tenter par l'acide acétique concentré et froid ou à une température qui ne dépasse pas 45° mais cette opération est rarement utile et peu praticable avec succès.

En présence alors des difficultés que l'on rencontrait on considéra le lait comme un liquide séreux dont on chercha à extraire les matières albuminoïdes par l'alcool aidé de la chaleur.

L'auteur employait un mélange d'acide acétique et d'alcool à 95° porté à l'ébullition Il avait observé en effet que l'élévation de

température, en général inutile pour le lait de vache, était nécessaire pour le lait de femme et le colostrum. Sans elle une portion des substances azotées resterait en solution et se troublerait par une nouvelle addition d'alcool à 95°. Ainsi donc, manipulation délicate, procédé incertain. Toutefois retenons ceci : c'est qu'il est nécessaire de porter à une température élevée pour avoir toute l'albumine. Nous tirerons parti de ce fait plus tard.

D'autre part, beaucoup de chimistes évaluent les matières albuminoïdes par différence en soustrayant du poids de l'extrait la somme des poids du beurre, de la lactose et des cendres.

Les totaux partiels dépassent le plus souvent le chiffre représentant les principes fixes, cela tient sans doute, au mode de dessication qui enlève 2 % en moyenne aux principes fixes sous forme d'eau de cristallisation ou de combinaison.

Ce n'est donc qu'une approximation.

Je ne citerai que pour mémoire le procédé conseillé par le Docteur Bouchut et consistant à compter le nombre de globules butyreux contenus dans une goutte de lait. C'est commode assurément, mais on ne juge pas de la qualité d'un aliment aussi nécessaire avec une seule goutte.

Telles sont résumées les différentes méthodes les plus connues et les plus employées pour doser la caséine.

Les remarques qui suivent nous ont servi de guides dans l'emploi de la nouvelle manière d'opérer.

On sait que les acides coagulent le lait et que la sensibilité de ce liquide à leur action croît avec la température.
La forme particulière dans laquelle se trouve la caséine du lait de femme, forme colloïdale joue un très grand rôle dans sa précipitation complète; mais ce sont les observations du Docteur Roux de Bordeaux qui nous ont facilité le choix d'un acide particulier qui précipite toute la caséine.

Nous venons de voir que l'acide acétique, le sulfate de magnésie, l'alcool etc.. ne permettent d'obtenir qu'un dosage incomplet. Si au contraire on s'adresse au dérivé trichloré de ce même acide acétique ajouté au serum ammoniacal obtenu d'après la méthode d'Adam on précipite complètement la caséine. Les expériences n'ont porté que sur le lait de vache.

L'acide trichloracétique pur, étant solide à la température ordinaire, n'est pas d'un usage commode, une solution au 1/3 en poids est celle qui donne de bons résultats.

Il importe avant tout de vérifier l'identité de l'acide dont on veut faire usage, car les acides mono et di chloracetiques n'ont pas la même action. La vérification se fait en pesant exactement de 0.80 à 1g d'acide dans un ballon de 50 cc complétant le volume

avec de l'eau distillé et prenant le titre du liquide avec de la soude décime normale en présence de la phtaléine du phénol; un simple calcul permet ensuite de trouver le poids moléculaire de l'acide examiné avec une exactitude suffisante.

Mode opératoire — 1° Densité — La seule méthode rigoureuse aujourd'hui connue pour la détermination rapide de la densité des liquides est la méthode du flacon. C'est du reste la seule qui puisse être employée ici, étant donné la faible quantité de lait dont on dispose généralement.



2° Dosage du beurre, de la caséine.

Pour cela, suivre la marche habituelle du procédé Adam. 10cc du lait sont introduits dans le galactinomètre et traités comme il convient. On obtient d'une part une solution éthérée de beurre et de l'autre une solution aqueuse contenant la lactose, la caséine et les sels. Le beurre est pesé après évaporation et dessication dans une capsule tarée. Il faut éviter de prolonger l'action de la chaleur qui pourrait en altérant le corps gras fausser les résultats.

Puis la solution aqueuse de lactose de caséine et de sels est traitée par 5cc de solution d'acide trichloracétique au 1/3. On porte à l'ébullition le liquide dont le volume total ne doit pas dépasser 100cc de façon à rassembler et à coaguler toute la caséine.

Des flocons nombreux et épais nagent au sein du liquide qui est jeté sur un double filtre taré.

Il est à remarquer que la liqueur et la caséine se colorent à ce moment d'une légère teinte violet rougeâtre, cela tient à la présence même de l'acide trichloracétique, il n'y a pas lieu de s'en inquiéter; cela ne saurait en aucune façon influencer le résultat définitif.

Lorsque les eaux mères sont écoulées on lave la caséine avec 50cc d'eau distillée additionnés de 2cc de solution d'acide trichloracétique cette eau acide est employée par affusions successives en ayant soin de laisser chaque fois le filtre se vider complètement.

Le lavage terminé, on sépare les deux filtres, on les assèche aussi complètement que possible entre des feuilles de papier à filtrer et on les porte à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant. On a ainsi le poids de la caséine de 10cc de lait, en multipliant par 100 on a la quantité contenue dans un litre.

Le lavage tel qu'il est pratiqué est suffisant pour priver la caséine de la lactose et des sels. En effet les 15 premiers centimètres cubes qui passent contiennent 0.004 à 0.005; or quand on a bien asséché le filtre entre deux feuilles de papier buvard il retient seulement 1.25 à 1.50 d'eau acide soit 0.00015 à 0.0005 de matières solides étrangères; cela peut occasionner sur le poids de la caséine d'un litre de lait une erreur maxima de 0.05; le lavage est donc pratiquement suffisant et la caséine ne retient pas d'acide trichloré.

Pour démontrer que toute la caséine

est bien précipitée, nous avons institué la série suivante d'expériences.

Du lait de vache frais, traité par la méthode d'Adam a donné un liquide aqueux qui fut divisé en deux parties égales.

L'une fut traitée par l'acide trichloracétique et l'autre par l'acide acétique, les précipités recueillis sur des filtres tarés, et, les liquides essayés aux réactifs suivants :

	Acide trichloracétique	Acide Acétique
Réactif d'Esbach	Rien	Précipité
id de Tanret	Rien	Précipité
id de Méhu	Rien	Précipité
Alcool	Rien	Précipité

Le lait pur et frais ne renferme donc pas de peptones.

Lactose – Si maintenant on essaye de doser la lactose dans les deux liquides précédents, on observe que la présence de l'acide trichloracétique empêche totalement la réduction du réactif de Fehling par le sucre, même quand on a soin d'alcaliniser la solution sucrée avant de la verser dans la liqueur cupropotassique bouillante.
Ce résultat n'est pas proportionnel aux poids moléculaires d'acide et de lactose en présence, mais à la quantité relative d'acide ; ainsi l'expérience directe faite avec des solutions de lactose et d'acide convenablement étendues a donné les résultats suivants :

Lactose	Acide	Volume nécessaire pour réduire 10 cc liq. de fehling.
1 Molécule . .	0 Molécule . . .	10 c. cubes . .
1 id . . .	1 id	13. 8 cc. . .
1 id . . .	2 id	16. 2 cc . . .
1 id . . .	4 id	26. 2 " . . .

Cependant on peut tourner la difficulté en se basant sur les observations suivantes:

L'acide trichloracétique sous l'influence de l'hydrogène naissant se transforme en acide acétique et chloroforme.

$$C^4H.Cl^3O^4 + 6H = C^4H^4O^4 + 3HCl.$$

Il n'est pas toujours commode d'avoir de l'hydrogène naissant. Successivement nous avons essayé la poudre de zinc pur, mais la réduction ultérieure ne se fait qu'imparfaitement, de même la formation d'un trichloracétate insoluble de mercure avec de l'oxyde jaune, ne nous a rien donné. Enfin la seule substance qui puisse rendre pratique le dosage de la lactose est une lame d'aluminium. Il est bon d'opérer ainsi: Le liquide privé de caséine est mis en contact avec quelques lames d'aluminium et porté à l'ébullition, la réaction commence aussitôt à se manifester et au bout de 2 heures elle est complètement terminée. On chauffe de nouveau, après avoir filtré, pour chasser le chloroforme, et, les liquides refroidis et ramenés au volume primitif de 100cc sont prêts pour le dosage.

Les résultats que l'on obtient sont les suivants

Si on emploie d'une solution type

10 c.c. pour réduire 10 c.c. de liqueur Fehling on obtient pour la même solution de lactose additionnée d'acide et traitée comme il vient d'être dit, les moyennes suivantes

1° — 9.8
2° — 10.1
3° — 10.1. = 10 c.c.
30.0

Le résultat peut donc être considéré comme exact.

La méthode que nous venons d'exposer donne successivement

1° – la densité
2° – le beurre
3° – la caséine
4° – la lactose

La quantité de liquide nécessaire à une analyse de lait de femme doit être au minimum de 10 c.c. et on peut toujours se la procurer.

Applications — Depuis deux ans que j'expérimente ce procédé, j'ai toujours trouvé pour la caséine du lait de femme des chiffres supérieurs à ceux admis jusqu'alors, il est vrai que c'était par différence qu'on établissait la quantité qui s'y trouvait.

En effet, avec l'emploi de l'acide trichloracétique nous avons presque toujours dans nos dosages comparatifs trouvé des augmentations variant de 2 g à 2 g 50 et même 3 g 50.

Il en résulte donc que la lactoprotéine qui n'était nullement atteinte par les anciens

procédés se trouve précipitée et vient augmenter ainsi la teneur en albuminoïdes que l'on observe par les méthodes ordinaires.

Nous n'avons pas eu la prétention en publiant ces simples notes d'analyses de fournir un travail complet; mais de montrer ce qu'une observation attentive et prolongée nous a permis de constater.

C'est une petite modification dans le modus faciendi habituel.

G. Baudran

Pharmacien de 1ère Classe

Beauvais (Oise)

